



“GERMINACIÓN Y ESTABLECIMIENTO DE ALFALFA EN CONDICIONES DE SALINIDAD”.

“Trabajo final de graduación para obtener el título de Ingeniero Agrónomo”

Autores:

CABRERA, Daniela

MIRANDA, Cristian

Directora: María Eugenia GALLACE - Microbiología Agrícola.

Codirector: Fernando PORTA SIOTA - EEA INTA Anguil.

Evaluadores: Dalmaso, Lucas Pablo- Cereales y Oleaginosas/ Agrotecnia

Fontana, Laura María Celia- EEA INTA Anguil

FACULTAD DE AGRONOMÍA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Santa Rosa (La Pampa)- Argentina.2023

Índice

RESUMEN	3
PALABRAS CLAVES	3
ABSTRACT	4
KEYS WORDS	4
INTRODUCCIÓN	5
HIPÓTESIS	8
OBJETIVOS	8
Objetivos específicos:	8
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Ensayo y determinaciones para cumplir con el objetivo A.	9
Ensayos y determinaciones para cumplir con los objetivos B y C.	11
Análisis estadístico:	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
Incidencia de la salinidad sobre el poder germinativo (PG) de diferentes cultivares de alfalfa.	13
Infectividad de la cepa <i>Ensifer meliloti</i> B401 adaptada y sin adaptar a salinidad sobre plantas de alfalfa en implantación y establecimiento.	17
Evaluación del crecimiento de plantas de alfalfa inoculadas en etapa de implantación y establecimiento bajo condiciones de estrés salino.	19
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	27

RESUMEN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es uno de los cultivos forrajeros más valioso del mundo, que por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en simbiosis con cepas de *Ensifer meliloti*, la convierten en un pilar fundamental de sustentabilidad de los establecimientos agropecuarios. La relación simbiótica que se establece es un proceso sensible a la salinidad, por lo cual la búsqueda de estrategias para el manejo de esta pastura en este tipo de ambientes es necesario. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la salinidad sobre la simbiosis *Medicago sativa*- *Ensifer*. Para ello se realizaron ensayos de germinación de cultivares de alfalfa a distinto nivel de salinidad. Luego se desarrollaron ensayos en macetas comparando el crecimiento de plántulas de alfalfa inoculadas con la cepa *Ensifer meliloti* B401 adaptada y no adaptada a condiciones de estrés salino. En condiciones de salinidad, la elección de cultivares con tolerancia en parámetros de germinación es una estrategia que permitiría lograr éxitos en el establecimiento de una pastura. La adaptación de la cepa *E. meliloti* B401 muestra diferencias en estadíos avanzados del ciclo de crecimiento de la alfalfa por lo que es conveniente profundizar estudios, en períodos de crecimiento de la alfalfa mayores a los evaluados en este trabajo.

PALABRAS CLAVES

Forrajera, estrés salino, simbiosis.

ABSTRACT

Alfalfa (*Medicago Sativa* L.) is one of the most valuable fodder crops in the world, than because of its ability to set atmospheric nitrogen in symbiosis with meliloti setting strains, make it a fundamental pillar of sustainability of agricultural establishments. The symbiotic relationship established is a salinity sensitive process, so the search for strategies for handling this pasture in this type of environments is necessary. The objective of this work was to study the effect of salinity on the symbiosis *Medicago sativa- Ensifer*. For this, alfalfa cultivars germination tests were carried out at a different level of salinity. Then, pots were developed by comparing the growth of alfalfa seedlings inoculated with the *Ensifer meliloti* B401 strain adapted and not adapted to saline stress conditions. In salinity conditions, the choice of cultivars with tolerance in germination parameters is a strategy that would allow successes in establishing a pasture. The adaptation of the strain *E. Meliloti* B401 shows differences in advanced stages of the alfalfa growth cycle so it is convenient to deepen studies, in periods of alfalfa growth greater than those evaluated in this work.

KEYS WORDS

Forage, Saline stress, Symbiosis

INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es uno de los cultivos forrajeros más valioso del mundo debido a su alta calidad nutricional, altos rendimientos y su gran adaptabilidad a diversas condiciones de suelo, clima y manejo. Por otra parte, su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en simbiosis con cepas de *Ensifer meliloti*, la convierten en un pilar fundamental de sustentabilidad de los establecimientos agropecuarios.

En nuestro país se estiman aproximadamente 3,2 millones de hectáreas de alfalfa cultivadas, alrededor del 60% sembradas puras y 40% en mezclas con gramíneas forrajeras templadas. Las alfalfas puras se utilizan principalmente para producción de leche y heno, mientras que las mezclas con pastos se suelen dedicar a la producción de carne (Basigalup et al 2018). Para la obtención de altos rendimientos y persistencia, la especie requiere de suelos profundos (mayores a 1.2 m), bien aireados, de reacción neutra (pH 6.5-7.5) y buena fertilidad química con mayor importancia en la concentración de fósforo (P) y su disponibilidad (Basigalup y Rossanigo, 2007).

En los últimos años, Argentina ha experimentado cambios rápidos y expansivos en el uso del suelo (Aizen et al. al., 2009; Jayawickreme et al., 2011). Se produjo no solo una intensificación de los sistemas ganaderos, sino también su desplazamiento hacia zonas con mayores limitaciones edáficas y/o climáticas, zonas áridas y/o semiáridas, donde predominan suelos con bajo contenido de nutrientes y problemas abióticos como salinidad, acidez y sequía, donde suelos con producción histórica de alfalfa se ha desplazado a la producción hacia otros cultivos (Cornacchione et al, 2017) Por lo tanto, parte de la producción de alfalfa se está trasladando a áreas marginales, que están afectadas por sales y donde las aguas de menor calidad están disponibles para riego (Lavado, 2008; Prieto et al.,2015).

La alfalfa es una especie forrajera con un amplio desarrollo genético logrado en las últimas décadas, y su mejor adaptación a ambientes con restricción salina ha sido uno de los objetivos del mejoramiento. Esta especie se clasifica como de mediana tolerancia a la salinidad dentro de un rango de conductividad eléctrica (CE) de 4 a 12 dS m⁻¹. Según las curvas de respuesta elaboradas por Maas (1987), la producción de alfalfa disminuye 7,3 % por cada dS m⁻¹ de incremento por encima de los 2 dS m⁻¹. Una CE de 3,4 dS m⁻¹ implica un 10 % de reducción en la producción forrajera, un 25 % de reducción se asocia a una CE de 5,4 y un 50 % de reducción a una CE de 8,8 dS m⁻¹. El exceso de contenido de sales impide que la planta pueda utilizar el agua presente en el suelo, debido a que se genera un cambio en los valores del potencial osmótico, siendo el potencial osmótico del suelo mayor al potencial osmótico dentro de la raíz, lo que imposibilita la captación de agua por parte de la planta generando una sequía fisiológica. (Lus, J; 2015)

Un punto clave para lograr un buen desarrollo y establecimiento, además de tener en cuenta factores ya mencionados, es la calidad de la semilla, haciendo hincapié en su poder germinativo como energía germinativa. Se entiende por germinación al proceso por el cual la semilla en contacto con la humedad del suelo comienza a embeberse de agua y luego de diversas transformaciones se origina la raíz y un pequeño tallo que originará el vástago de la planta. (Basigalup y Rossanigo, 2007). En tanto que la energía germinativa o vigor nos da la información de la tasa de germinación por lo que se deben tener en cuenta las semillas germinadas en un lapso de tiempo. Estos factores mencionados, poder germinativo y energía germinativa se ven afectados por un medio salino circundante, causando efectos tóxicos en el embrión; como imposibilitando en primera instancia la absorción de agua, impidiendo la emergencia de la radícula y frenando la germinación. (Munns and James, 2002).

La alfalfa tiene la capacidad de establecer simbiosis con bacterias del suelo llamadas rizobios. De esa asociación se logra que el nitrógeno de la atmósfera sea reducido a amonio, el cual puede ser aprovechado por las plantas para la formación de sus proteínas. La interacción *Ensifer* sp.-leguminosa es altamente específica, lo que significa que en general cada especie bacteriana se establece con uno o pocos géneros o especies vegetales. (Sanjuan P, J.M ; 2001). La relación simbiótica que se establece es un proceso sensible a todo tipo de estrés como lo son salinidad, sequía, calor, frío, etc. Generalmente estos tipos de estrés interfieren en la correcta infección de la planta por parte de las bacterias, causando un menor número de nódulos como de su tamaño, por lo tanto, menos efectivos. (Quiñones M. A.; 2011). Durante esta interacción las bacterias inducen la formación de nódulos en las raíces donde es llevada a cabo la FBN. Esta interacción está estrechamente relacionada con el estado fisiológico de la planta, por lo que las diversas circunstancias ambientales, como es la salinidad de suelos, puede limitar el establecimiento de esta relación, afectando el crecimiento de las plantas y FBN (Gallace 2020). Diversas estrategias se han estudiado para que la simbiosis no sea afectada o en menor medida por estrés, entre ellas la adaptación de la bacteria a condiciones de salinidad. Por lo tanto, para mantener niveles de productividad de alfalfa en suelos salinos, se debe lograr una buena relación entre la planta y su macrosimbionte.

HIPÓTESIS

La inoculación con *Ensifer meliloti* B401 adaptada a salinidad mejorará la implantación y establecimiento de plantas de *Medicago sativa*.

OBJETIVOS

Objetivo general: estudiar el efecto de la salinidad sobre la simbiosis *Medicago sativa*- *Ensifer*.

Objetivos específicos:

- A. Evaluar la incidencia de la salinidad sobre el poder germinativo de semillas de cultivares de alfalfa.
- B. Estudiar la infectividad de la cepa *Ensifer meliloti* B401 adaptada y sin adaptar a salinidad sobre plantas de alfalfa en implantación y establecimiento.
- C. Evaluar el crecimiento de plantas de alfalfa inoculadas con *Ensifer meliloti* B401 adaptada y sin adaptar a salinidad en etapa de implantación y establecimiento bajo condiciones de estrés salino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ensayo y determinaciones para cumplir con el objetivo A.

Se evaluó el poder germinativo de semillas de alfalfa, en condiciones controladas de luz y temperatura de los cv CANDELA, VICTORIA SP INTA, G-969 y AURORA cuyas características se describen en la **Tabla 1**. Para ello se siguió el protocolo de Rumbaugh (1991) que evalúa la tolerancia a la sal de semillas de alfalfa en germinación. Se utilizaron cajas de Petri con papel de filtro y algodón estériles, realizando cuatro repeticiones de 25 semillas por caja (**Figura 1, A**). Los tratamientos fueron soluciones de 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 y 210 mM de NaCl equivalentes a valores de conductividad eléctrica de 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 dSm⁻¹ respectivamente (**Figura 1, B**). Las semillas se regaron con 5 mL de solución por cada tratamiento, sin limitante de humedad, y se colocaron en estufa a 25°C por 7 días. Se consideró semilla germinada cuando la radícula tuvo una longitud de al menos 2 mm (**Figura 1, C**). A través de este ensayo se seleccionó un cultivar de alfalfa sensible a salinidad y el nivel de concentración salina a trabajar en los siguientes ensayos.

Tabla 1. Especificaciones de cultivares de alfalfa utilizadas en ensayo germinación.

CULTIVARES	ESPECIFICACIONES
VICTORIA SP INTA	REGISTRO INASE N°2114. Grupo 6. Productividad y adaptabilidad. Mayor resistencia al frio invernal debido a su mayor periodo de latencia. Tallo semi hueco y fino y con una elevada proporción de hojas que se traduce en un forraje muy apetecible para el ganado. Rápida henificación debido a su morfología. Elevada capacidad de rebrote. Gran calidad nutricional y apetecibilidad debido a su alto contenido proteico. Alta resistencia a enfermedades y plagas. Variedad para clima continental.
AURORA	REGISTRO INASE N°2394. Grupo 7. Ideal para reservas de forraje, resistente a plagas, muy alta sanidad general, excelente comportamiento al pastoreo. Calidad de forraje muy alta.
CANDELA	REGISTRO INASE N°11003. Grupo 6-7. Alta producción de forraje. Sobresaliente persistencia bajo veranos secos y calurosos. Altamente resistente a Fusariosis, pulgón azul y moteado.
G-969	REGISTRO INASE N°12938. Grupo 9. Porte erecto. Corona amplia. Originaria de USA. Destacada por su rendimiento y comportamiento sanitario, que superan ampliamente a otras alfalfas de su grupo de latencia. Destacado perfil fitosanitario que le otorga una gran persistencia.



Figura 1: (A) cajas de petri con papel de filtro y algodón, (B) tratamientos, (C) semilla germinada.

Ensayos y determinaciones para cumplir con los objetivos B y C.

El estudio se llevó adelante en el invernáculo automatizado de la Facultad de Agronomía UNLPam (**Figura 2, A**). Las semillas del cultivar seleccionado en el ensayo anterior, fueron pregerminadas en ambas situaciones, control y salinidad. Luego se transfirieron 4 semillas pregerminadas a macetas de 3 litros con suelo Haplustol Entico previamente tamizado (**Figura 2, B**) cuyas características se detallan en la **Tabla 2**. Las semillas fueron inoculadas con la cepa *Ensifer meliloti* B401 adaptada y sin adaptar a salinidad, obtenidas por el protocolo descrito por Gallace (2020). Se colocaron 0,5 mL de suspensión celular con una concentración $1 \cdot 10^9$ bacterias.mL⁻¹ sobre el suelo. Luego de un periodo de 3 días se procedió al raleo, dejando 2 plántulas por maceta (**Figura 2, C**). Las plantas se regaron a demanda, la mitad de las macetas con agua destilada y la otra mitad con solución salina, manteniendo la salinidad del suelo a la conductividad eléctrica elegida en el ensayo de germinación. Para ello se dispuso de macetas centinela, en la cual se evaluó por muestreo el pH y C.E del suelo de la misma, para tomar decisiones en los riegos sucesivos.

El ensayo duró quince semanas, se cosechó cada tres semanas y se midieron los siguientes parámetros:

- Peso seco planta (PSP)
- Peso seco aéreo (PSA)
- Peso seco raíces (PSR)
- Número de nódulos.

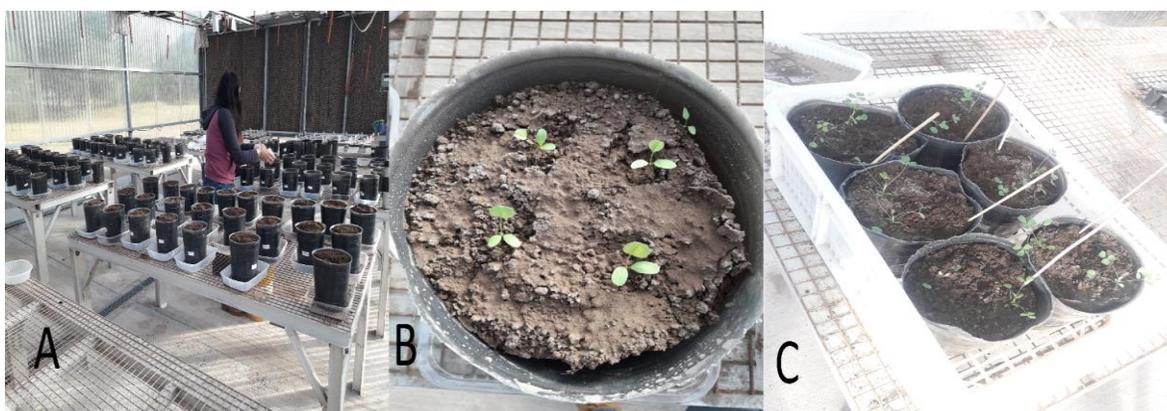


Figura 2: (A) interior de invernáculo automatizado, (B) 4 plántulas por macetas, (C) 2 plántulas por maceta.

Tabla 2. Caracterización del suelo empleado.

Indicador	Valor
Materia Orgánica	1,9 %
Fósforo*	6,2 ppm
Nitrógeno total	0,1 %
pH*	6,7
CE	1,5 dS m ⁻¹
Textura	Franco- Arenoso

*1 Fósforo extractable método Bray Kurtz 1.

*2 pH en agua 2,5:1.

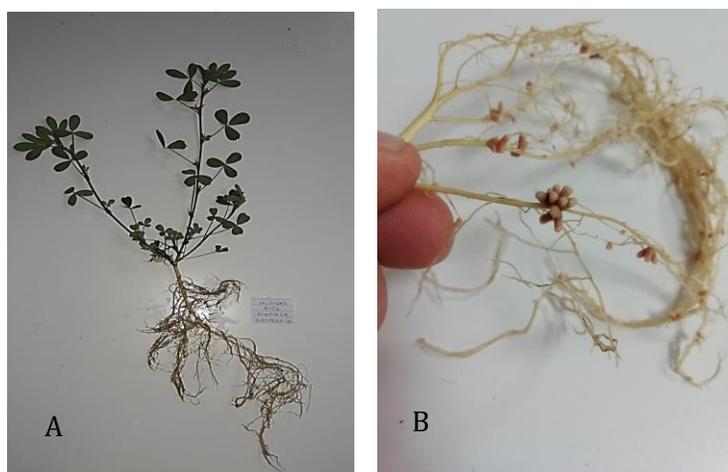


Figura 3: *A: Biomasa aérea y radical fresca, B: Nódulos frescos.*

Análisis estadístico:

Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA. Las comparaciones entre medias de tratamientos se realizaron a través de la prueba LSD de Fisher. Para estos análisis se utilizó el programa InfoStat (Di Rienzo, 2020).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia de la salinidad sobre el poder germinativo (PG) de diferentes cultivares de alfalfa.

En la **figura 4** se observa el poder germinativo de los cuatro cultivares de *Medicago sativa* seleccionadas a diferentes concentraciones de NaCl. El PG disminuye con el incremento de la salinidad, llegando a valores mínimos de de 8% en el caso del cultivar Candela y Victoria y de 13 y 18% para los cultivares Aurora y G-969, respectivamente, con solución salina a una concentración de 210 Mm de cloruro de sodio (C.E: 21 dS/m). Se puede observar que hasta una conductividad de 6 dSm⁻¹ no se encontraron diferencias significativas en la germinación de los

distintos genotipos. A partir de 9 dSm^{-1} se observan efectos negativos en el PG, con una baja de entre 5 y 10 por ciento. Resultados similares fueron descritos por Gallace et al (2017), donde para otros cultivares, 60 mM de NaCl no afectó el PG. Gonzales-Romero et al (2011) indicaron que con una CE de 12 dSm^{-1} se afectó el 35% de la germinación de alfalfa y que valores superiores a 19 mM NaCl afectó la totalidad de la germinación. Cornacchione y Suarez (2015), demostraron que cuando el efecto de la salinidad estuvo presente desde la siembra, la emergencia de las plántulas no sólo se retrasó, sino que también disminuyó significativamente, en especial cuando la salinidad del agua de riego fue de $18,4$ a $24,0 \text{ dSm}^{-1}$. La reducción de emergencia relativa se observó a partir de los $12,7 \text{ dS m}^{-1}$ (umbral). Por otra parte, Bertram et al (2021), reportaron que valores de CE de $8,7 \text{ dSm}^{-1}$ afectó el 100% de la germinación del cultivar WL1058, lo que estaría indicando que las diferencias se deben al nivel de tolerancia a la salinidad de los genotipos usados, por lo que la correcta elección del cultivar es esencial para el éxito de la germinación en suelos con limitantes salinas. Para elegir el cultivar y la concentración de trabajo a posterior se tuvo en cuenta cuál de los cultivares presentaba una mayor variación en el porcentaje de germinación debido a los tratamientos con soluciones salinas, en base a ellos se eligió el cultivar Aurora y se trabajó a una concentración de 150 Mm de cloruro de sodio (C.E: 15 dSm^{-1}). Con respecto al cultivar Victoria no se tuvo en consideración ya que observamos un bajo PG con una concentración salina de 0 mM .

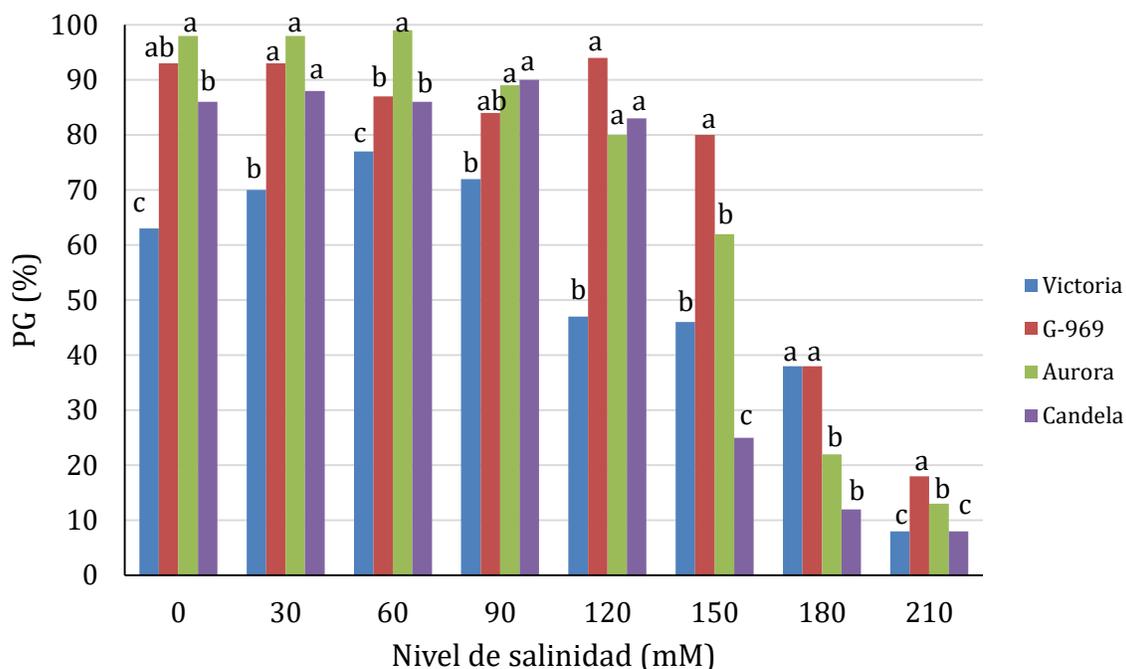


Figura 4. PG de semillas de alfalfa. Letras distintas significan diferencias significativas entre variedades para igual concentración salina. ($P < 0,05$)

Conductividad eléctrica y pH a lo largo del ensayo.

Con el fin de controlar el nivel de salinidad seleccionado para este estudio (150 mM NaCl), se registraron las variaciones en pH y CE en el suelo utilizando macetas centinelas.

Puede observarse que a lo largo del ensayo el valor de pH del tratamiento control tuvo un aumento de medio punto (de 7,3 a 7,8); en el tratamiento salinidad los valores oscilaron entre 7,3 y 7,6 (**figura 5**). En el caso de la variable C.E. en el tratamiento control no hubo variaciones; sin embargo en el tratamiento salinidad, se generó un aumento en la C.E. de $22,72 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, por lo que se comenzó a regar con agua 0 mM de NaCl, para bajar la conductividad a $15 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, la cual fue variado a lo largo del tratamiento (**figura 6**).

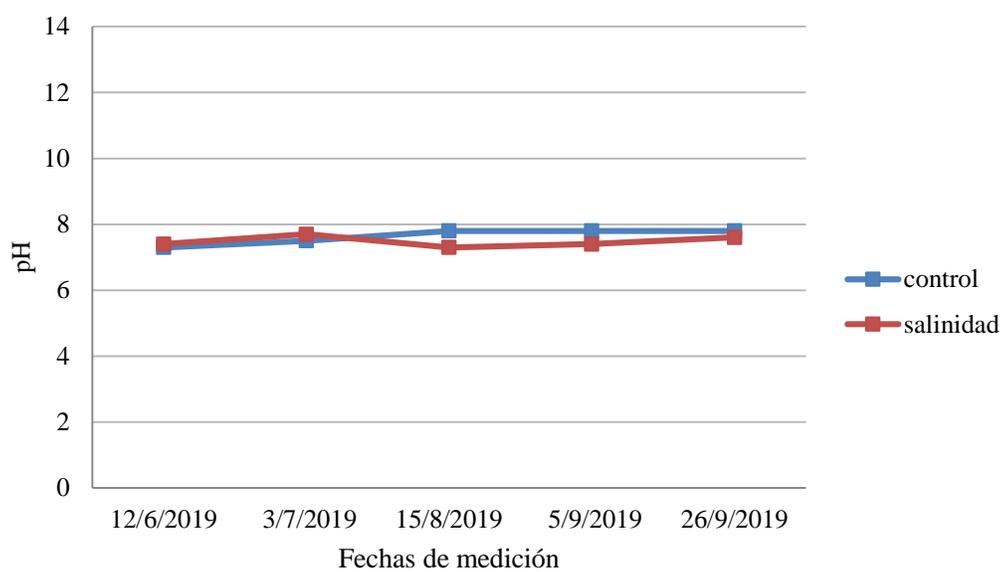


Figura 5. Variación de pH de macetas centinelas.

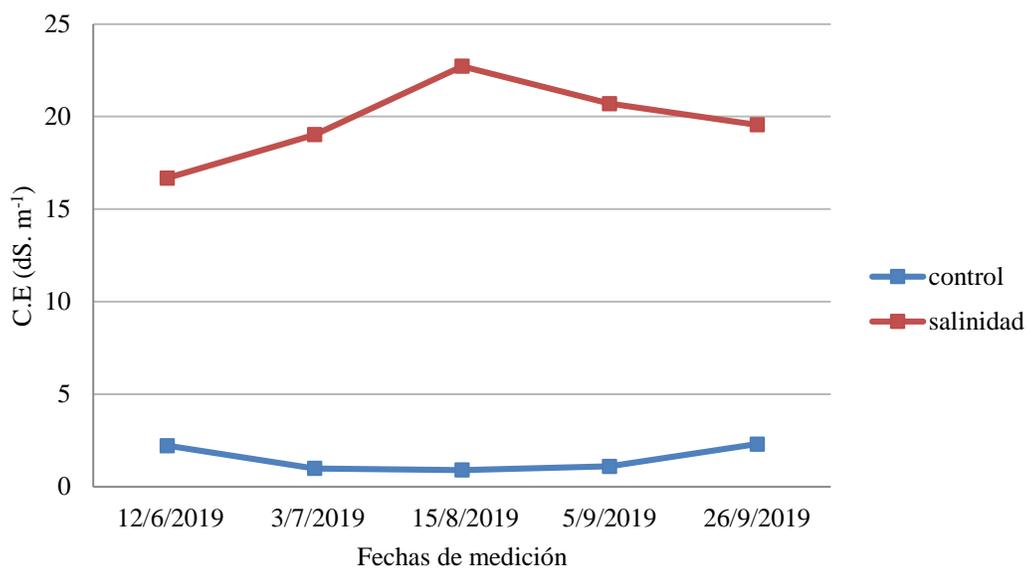


Figura 6. Variación de C.E. de macetas centinelas.

Infectividad de la cepa *Ensifer meliloti* B401 adaptada y sin adaptar a salinidad sobre plantas de alfalfa en implantación y establecimiento.

La infectividad de la cepa *E. meliloti* B401 sin adaptar y adaptada a salinidad puede analizarse a través de la formación de nódulos. No hubo interacción triple entre salinidad, tipo de cepa y muestreo. En la **figura N° 7** se observa el incremento en el número de nódulos en los muestreos independientemente de la cepa utilizada y del tratamiento salinidad en el suelo, indicando que las bacterias tuvieron buena performance y capacidad para establecer simbiosis a pesar de las condiciones de estrés salino. El mayor número de nódulos se encontró en estado fenológico de floración. Por otro lado, se encontró interacción entre el muestro y el tipo de cepa inoculada. No hubo diferencias significativas en el número de nódulos formados con la cepa *E. meliloti* B401 adaptada y sin adaptar en los primeros muestreos; sí se encontraron diferencias en el último muestreo, observando un número mayor de nódulos en plantas tratadas con la cepa B401 adaptada. Se han reportado diferentes resultados en cuanto la adaptación de rizobios a estrés. Draghi et al., (2010) mostraron que la cepa *E. meliloti* 2011 adaptada confiere una clara ventaja para nodular plantas huésped en condiciones ácidas. Gallace (2020) informó que no encontró diferencias en el número de nódulos, pero sí en la cantidad de nitrógeno fijado cuando se adaptó la cepa *E. meliloti* B399 a salinidad.

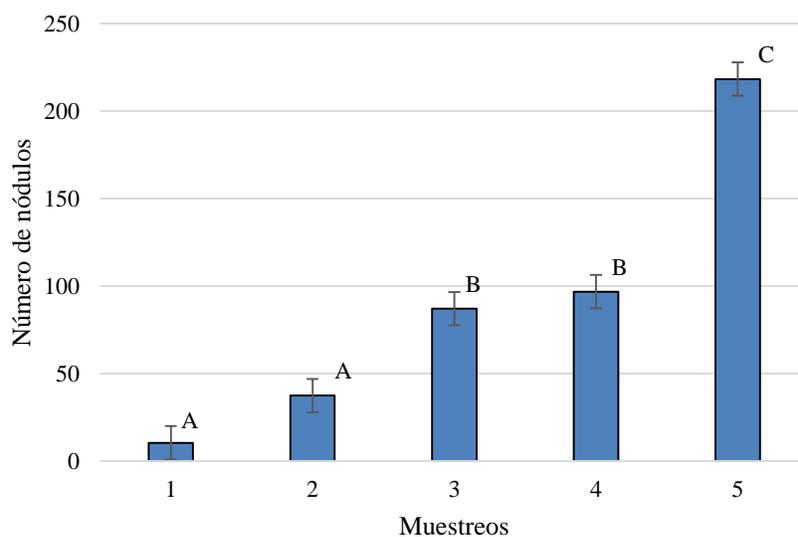


Figura N° 7. Promedio del número de nódulos en cada muestreo. Medias con letras iguales no difieren significativamente según prueba de Tuckey ($P < 0,05$)

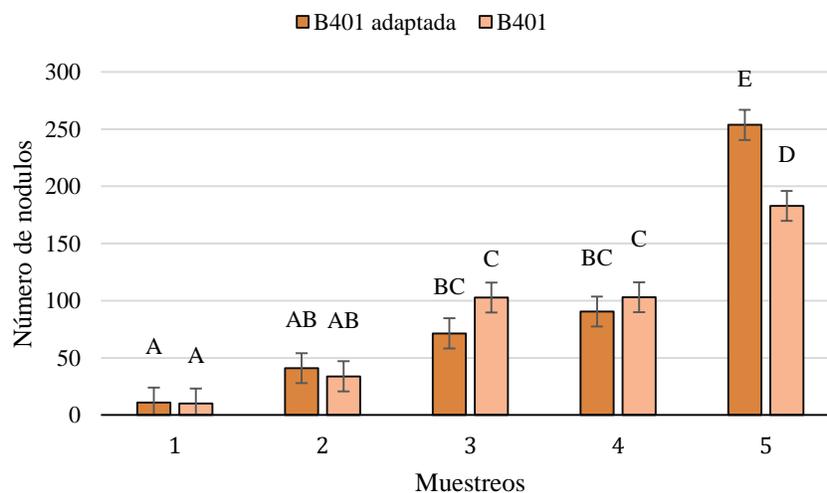


Figura 8: Número de nódulos en los diferentes muestreos con la cepa B401 adaptada y sin adaptar. Medias con letras iguales no difieren significativamente según prueba de Tuckey ($P < 0,05$)

Evaluación del crecimiento de plantas de alfalfa inoculadas en etapa de implantación y establecimiento bajo condiciones de estrés salino.

El tratamiento con 150 mM de NaCl afectó el PSP del cultivar Aurora con una disminución del 42% con respecto al riego con 0 mM de NaCl independientemente de la cepa utilizada (**figura 9**).

Esta diferencia no fue significativa durante los primeros 3 muestreos en la producción de materia seca, si hubo diferencias en los últimos dos muestreos en comparación con los anteriores y entre sí (**figura 10**), observándose una disminución entre el 30 y 35 % en el PSP en el muestreo 4 y 5 respectivamente, cuando las mismas fueron regadas con solución salina. En un ensayo realizado por Bertram et al (2021) reportaron que incrementos en la conductividad eléctrica de hasta 2 dS.m⁻¹ no redujeron significativamente la densidad poblacional de alfalfa, pero disminuyeron el tamaño de los individuos. Para algunos cultivos se ha reportado que la etapa de germinación y emergencia son las etapas más sensibles bajo el estrés salino. En alfalfa, los resultados son diversos, mientras que algunos autores han concluido que la capacidad de las plantas para producir biomasa no está necesariamente relacionada con la germinación o emergencia, otros han demostrado una correlación positiva entre la germinación con potencial de rebrote bajo estrés salino (Cornacchione, 2019).

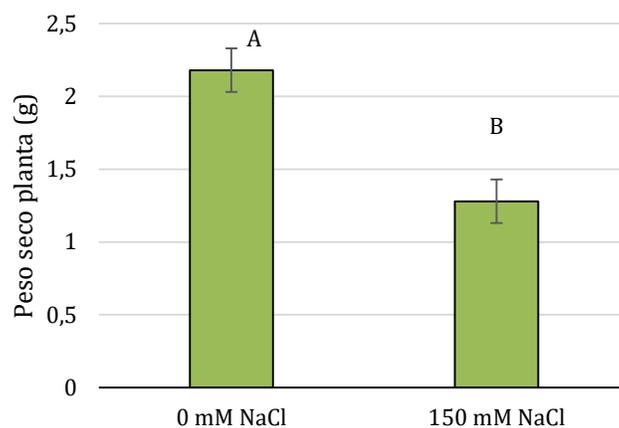


Figura 9: Peso seco planta con riego con solución de 0 mM y 150 mM NaCl. Medias con letras iguales no difieren significativamente según prueba de Tuckey ($P < 0,05$)

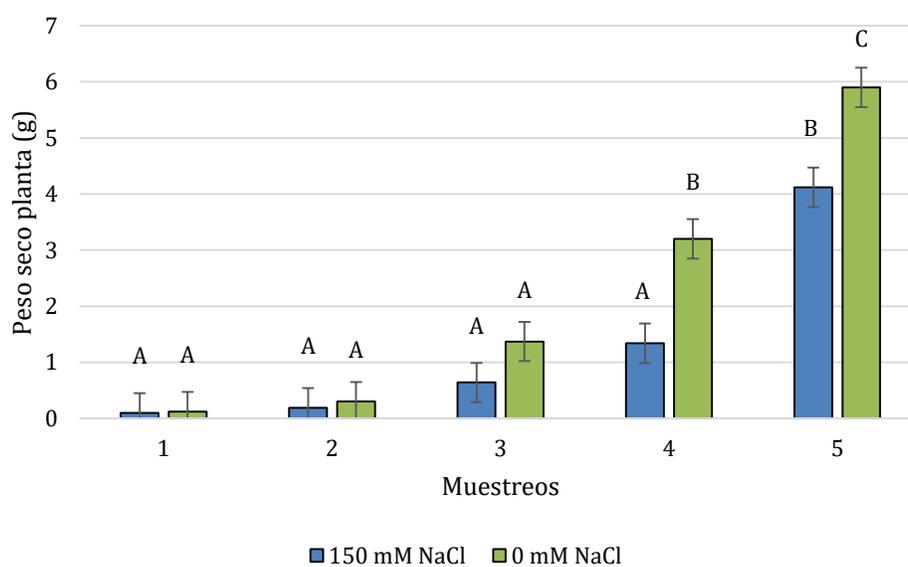


Figura 10: Variación del PSP a lo largo de los muestreos solución de 0 mM y 120 mM NaCl. Medias con letras iguales no difieren significativamente según prueba de Tuckey ($P < 0,05$)

En cuanto al PSA, se observa que la salinidad afectó la producción de materia seca aérea, donde se encontraron diferencias significativas entre la situación 0 y 150 mM de NaCl en los tratamientos ($p \leq 0,0001$), observándose una disminución del 47% en el PSA (**figura 11**).

El peso seco fue incrementando a lo largo del ciclo ontogénico de la alfalfa. Se produjo 29 % más de biomasa en el muestreo 5 bajo el tratamiento control respecto de la condición de salinidad. No encontramos efecto de la adaptación de la cepa a salinidad en el PSA a pesar de obtener mayor cantidad de nódulos que cuando se utilizó la *E meliloti* sin adaptar; si bien la cepa fue más infectiva, puede no haber sido más efectiva debido a que la misma adaptó a un nivel de salinidad 150 Mm de NaCl, y durante el ensayo, el nivel de CE alcanzado en el suelo fue de hasta de 23 dSm^{-1} . Gallace (2020) encontró que cuando se comparó la interacción rizobio-alfalfa, el cultivar WL 903 tuvo un aumento significativo de producción de biomasa, área foliar, contenido de nitrógeno, contenido de clorofila y número de nódulos cuando se la cultivó en condiciones de salinidad (120 mM NaCl) inoculada con la cepa con respuesta adaptativa a sal, no así, cuando se utilizó el cultivar tolerante Salina PV. Por su parte, Bertrand et al., (2015) han reportado una mejora en la respuesta a salinidad de la simbiosis en la alfalfa y rizobios, utilizando cultivares y cepas de rizobios, ambos tolerantes a salinidad.

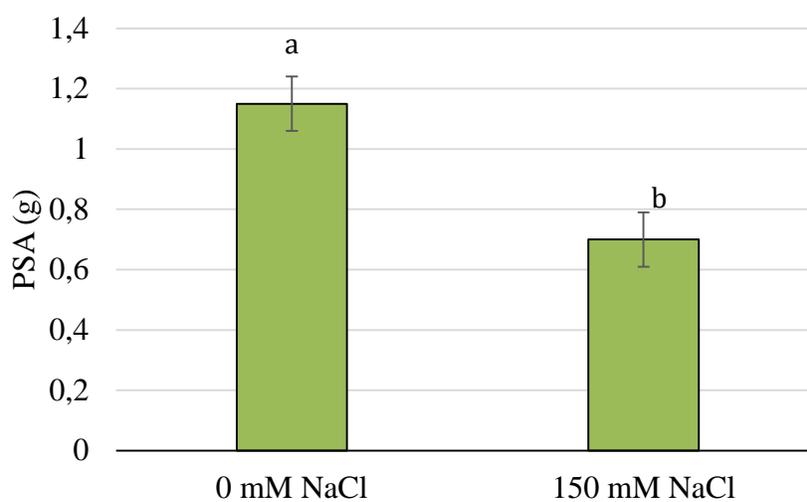


Figura 11. Media de PSA en los diferentes tratamientos. Letras distintas indican diferencias significativamente según prueba de Tuckey ($P < 0,05$)

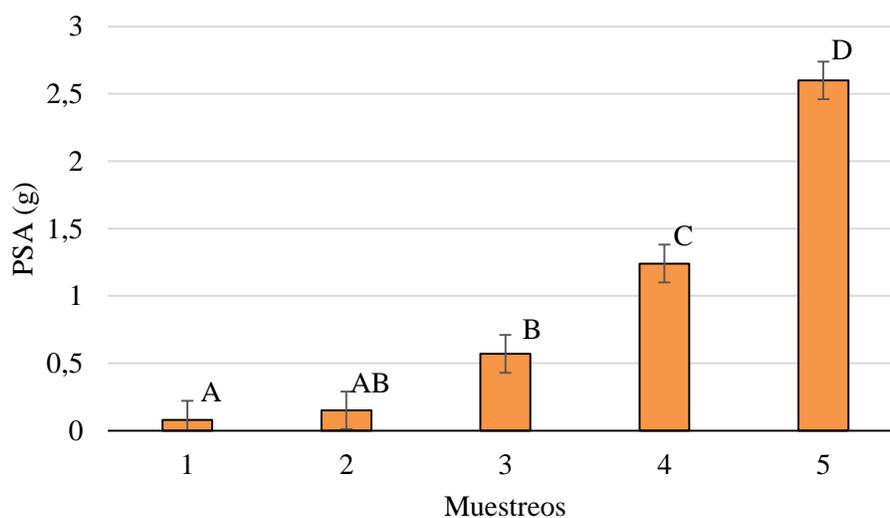


Figura 12. Evolución del PSA a lo largo del ensayo. Letras distintas indican diferencias significativamente según prueba de Tuckey ($P < 0,05$)

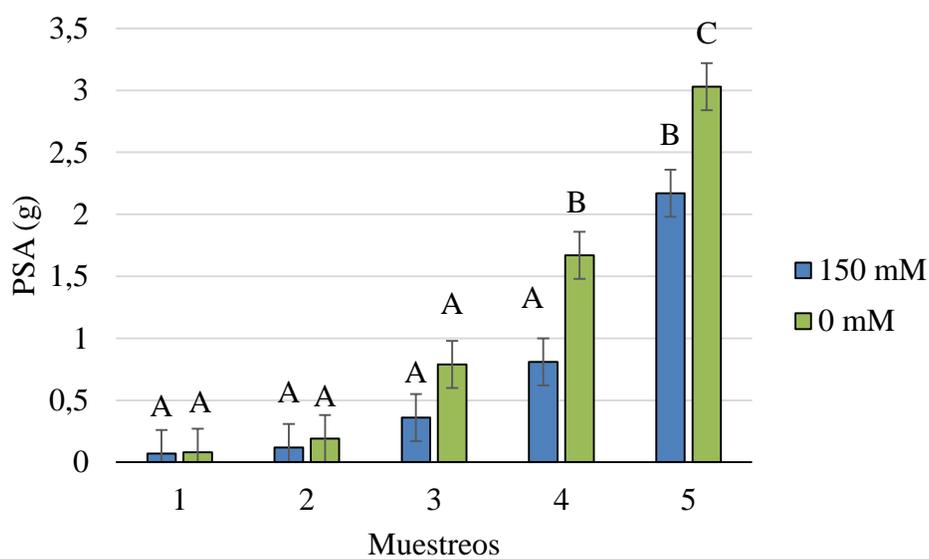


Figura 12: Evolución del PSA a los diferentes muestreos. Letras distintas indican diferencias significativamente entre nivel de salinidad y muestreos, según prueba de Tuckey ($P < 0,05$).

Por otra parte, en la condición de estrés salino existió un menor desarrollo radicular (55%) en comparación con las plantas desarrolladas en el medio con 0 mM de NaCl, esto se observa en la **figura 13**. Al igual que con el PSA, el PSR fue aumentando a lo largo del estado fenológico de la alfalfa (**figura 14**). El desarrollo de la raíz es un carácter importante para el estrés salino, ya que está en contacto directo con el suelo, donde la inhibición del crecimiento puede deberse a un efecto de los iones y absorción más lenta de agua (Jamil et.al. 2014).

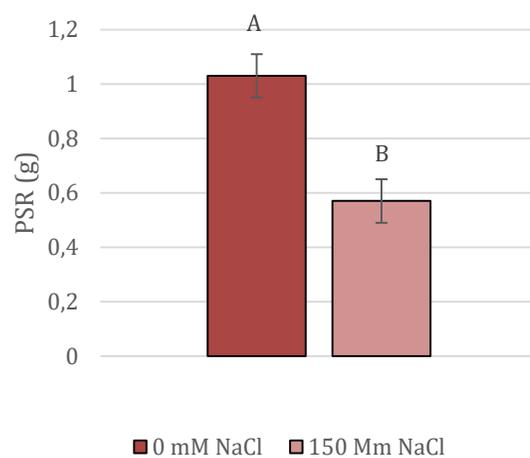


Figura 13. Media de PSR en los diferentes tratamientos. Letras distintas indican diferencias significativamente según prueba de Tuckey ($P < 0,05$)

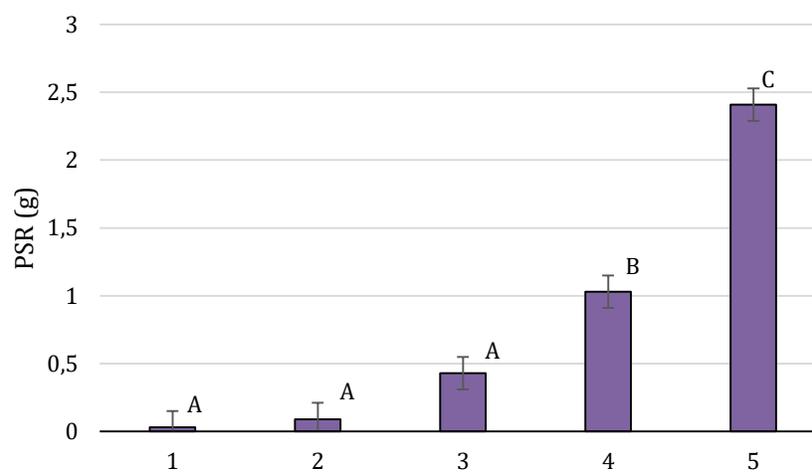


Figura 14. Evolución del PSR a lo largo del ensayo. Letras distintas indican diferencias significativamente según prueba de Tuckey ($P < 0,05$)

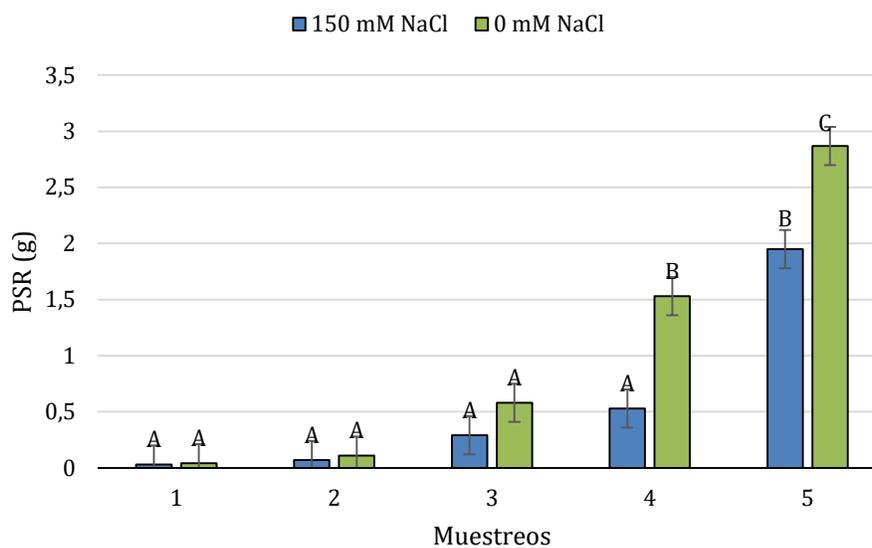


Figura 15: Evolución de PSR en los muestreos con y sin agregado de NaCl en la solución de riego. Letras distintas indican diferencias significativamente entre muestreos y tratamiento según prueba de Tuckey ($P < 0,05$)

La adaptación de la cepa B401 a la salinidad no tuvo respuestas significativas durante el tratamiento en el aumento del PSA y en el PSR, siendo que se encontraron diferencias en el número de nódulos entre la cepa adaptada y no adaptada a un medio salino. También se puede observar que en un medio salino el cultivar destino más fotoasimilados a la raíz en contraposición de la parte aérea, esto nos dice que la planta ante un estrés en estado de implantación prioriza un buen desarrollo radicular que aéreo, como se muestra en la **figura 15**.

CONCLUSIONES

Niveles de salinidad menores a 60 mM no presentaron diferencias entre cultivares. A niveles de salinidad superiores, existe una respuesta diferencial de los cultivares a la salinidad. Se observa que el cultivar G-969 presenta porcentajes de germinación mayores. En condiciones de salinidad, la elección de cultivares con tolerancia en parámetros de germinación es una estrategia que permitiría lograr éxitos en el establecimiento de una pastura.

La adaptación de la cepa *E. meliloti* B401 muestra diferencias en estadíos avanzados del ciclo de crecimiento de la alfalfa. En estadíos iniciales, no se observan diferencias entre la cepa adaptado y no adaptada a salinidad. Es conveniente profundizar los ensayos de este tipo, en períodos de crecimiento de la alfalfa mayores a los evaluados en la presente tesis.

La salinidad afectó el crecimiento de las plántulas, con diferencias entre los tratamientos. La adaptación de la cepa *E. meliloti* B401 no mostró diferencias en el comportamiento a niveles de salinidad extrema (23 dS.m⁻¹). La adaptación de la cepa a 150 mM podría no llegar a tener efecto a valores superiores de salinidad.

La partición de fotoasimilados hacia el sistema radicular en detrimento de la parte aérea en estados iniciales del ciclo de crecimiento en alfalfa en condiciones de salinidad estaría indicando una priorización del sistema de raíces, sirviendo posiblemente como estrategia de supervivencia de las plantas.

BIBLIOGRAFÍA

Aizen, M. A., Garibaldi, L. A., & Dondo, M. (2009). Expansión de la soja y diversidad de la agricultura argentina. *Ecologia Austral*, 19(1), 45–54.

Basigalup D. y Rossanigo R. (2007). Panorama actual de la alfalfa en la Argentina. In *El Cultivo de la Alfalfa en la Argentina*. Ediciones INTA. Argentina.

Basigalup, D., Giletta, M., Odorizzi, A., Arolfo, V., Sánchez, F. and Urrets Zavalía, G. (2018). An overview of alfalfa (*Medicago sativa* L.) situation in Argentina. In Proceedings of the second world alfalfa congress. Global interaction for alfalfa innovation (pp. 25–29). Córdoba, Argentina.

Bertram, N. A., Alfonso, C., Grande, S., Chiacchiera, S., Ohanian, A., Bonvillani, J., Conde, M.B., & Angeletti, F.R.. (2021). Efecto de la concentración salina y el regimen hídrico sobre la germinación, emergencia y establecimiento de alfalfa (*Medicago sativa* L.). RIA. Revista de investigaciones agropecuarias, 47(2), 267-272.

Bertrand, A., Dhont, C., Bipfubusa, M., Chalifour, F. P., Drouin, P., & Beauchamp, C. J. (2015). Improving salt stress responses of the symbiosis in alfalfa using salt-tolerant cultivar and rhizobial strain. *Applied Soil Ecology*, 87, 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.11.008>

Cornacchione, M. V, & Suarez, D. L. (2015). Emergence , Forage Production , and Ion Relations of Alfalfa in Response to Saline Waters, (February). <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.01.0062>

Cornacchione M & Suarez D.L. (2017). Evaluation of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Populations' Response to Salinity Stress.

Cornacchione, M. V. (2019). Avances sobre la tolerancia a la salinidad en alfalfa y sus implicancias para el ambiente semiárido bajo riego. I jornada de producción de bovinos de carne.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Draghi, W. O., Papa, D., Pistorio, M., & Lozano, M. (2010). Cultural conditions required for the induction of an adaptive acid- tolerance response (ATR) in *Sinorhizobium meliloti* and the question as to whether or not the ATR helps rhizobia improve their symbiosis with alfalfa at low pH, 302, 123–130. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01846.x>

Gallace M.E (2020). Interacción Alfalfa-*Ensifer meliloti*: respuesta al estrés salino. Tesis de Maestría. FA-UNLPam.

Gallace M.E., Molas, M.L., Lorda, G., Dalmaso, L.P (2017). Efecto de la concentración salina sobre la germinación de alfalfa. V Reunión Argentina de Salinidad.

González-Romero, S., Franco-Mora, O., Ramírez-Ayala, C., Ortega-Escobar, H., Quero-Carrillo, A., & Trejo-López, C. (2011). Germinación y crecimiento de alfalfa bajo condiciones salinas. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 2(1), 169-174.

Lus, J. (2015). Alfalfa en ambientes salinos o salinos sódicos ¿Es lo mismo? *Boletín Todoagro*. Sitio de Producción Animal.

Jayawickreme, D. H., Santoni, C. S., Kim, J. H., Jobbágy, E. G., & Jackson, R. B. (2011). Changes in hydrology and salinity accompanying a century of agricultural conversion in Argentina. *Ecological Applications*, 21(7), 2367–2379. <https://doi.org/10.1890/10-2086.1>

Jamil, M. & Rha, E.S. The effect of salinity (NaCl) on the germination and seedling of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L). 232 (2004)

Lavado, R. S. (2008). Visión sintética de la distribución y magnitud de los suelos afectados por salinidad en la Argentina. In and G. S. M. E. Taleisnik, K. Grunberg (Ed.), *La salinización de suelos en la Argentina: Su impacto en la producción agropecuaria* (pp. 11–15). Córdoba, Argentina: EDUCC

Lus, J. (2015). Alfalfa en ambientes salinos o salinos sódicos ¿Es lo mismo? Boletín Todoagro. Sitio Argentino de Producción Animal.

Maas E.V. (1987). Salt tolerance of plants. In R. B.Christie (Ed.), *Handbook of Plant Science in Agriculture* (pp. 55–75). CRC Press, Boca, Raton, FL, USA.

Ministerio de la Producción, 2021. Anuario estadístico 2021 Provincia de La Pampa. (p. 20). Santa Rosa: Subsecretaría de Estadística y Censos.

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 239–250. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>

Prieto, D., R.M. Sanchez, and R. S. M. (2015). Las áreas de riego y la degradación de suelos. In R.R. Casas and G.F. Albarracin (Ed.), *El deterioro del suelo y del ambiente en la Argentina* (pp. 319–346). Buenos Aires, Argentina: FEDIC.

Rumbaugh M. D. (1991). Salt Tolerance of Germinating Alfalfa Seeds. Standard Tests to Characterize Alfalfa Cultivars.

Sanjuan Pinilla, J.M (2001). Importancia de la biosíntesis bacteriana de leucina para el establecimiento de la simbiosis Rhizobium-Leguminosa. Tesis doctoral. Editorial de La Universidad de Granada.

Quiñones Miguel A (2011). Fundamentos y aplicaciones agroambientales de las interacciones beneficiosas plantas-microorganismos. Capítulo 8. Estrategias para mejorar la tolerancia a estreses abióticos de la simbiosis Rhizobium-Leguminosa.